

UNIVERSITÉ DE LYON
FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE - N° 196

L'HOMOGÉNÉISATION des CRACHATS par l'EAU de JAVEL

pour la
recherche du Bacille de Koch

THÈSE

POUR LE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE LYON

SECTION de MÉDECINE

présentée et soutenue publiquement devant la Faculté de Médecine et de Pharmacie

Le 30 Janvier 1924

PAR

M^{lle} Militza PAVLOVITCH

née à KRALJEVO (Serbie) le 1^{er} Mars 1899



LYON

Imprimerie BOSC FRÈRES & RIOU

42, Quai Gailleton, 42

Téléphone 63-56

1924

L'HOMOGENÉISATION DES CRACHATS
PAR L'EAU DE JAVEL
pour la recherche du Bacille de Koch

UNIVERSITÉ DE LYON
FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE - N° 196

L'HOMOGENÉISATION des CRACHATS par l'EAU de JAVEL

pour la
recherche du Bacille de Koch

THÈSE

POUR LE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE LYON

SECTION de MÉDECINE

présentée et soutenue publiquement devant la Faculté de Médecine et de Pharmacie

Le 30 Janvier 1924

PAR

M^{lle} Militza PAVLOVITCH

née à KRALJEVO (Serbie) le 1^{er} Mars 1899



LYON

Imprimerie BOSC FRÈRES & RIOU

42, Quai Gailleton, 42

Téléphone 63-56

—
1924

PERSONNEL DE LA FACULTE

Doyen honoraire..... MM. H. HUGOUNENQ.
Doyen J. LEPINE.
Assesseur ROQUE.

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. AUGAGNEUR, CAZENEUVE, BEAUVISAGE,
LACASSAGNE, TESTUT, FLORENCE (A.), TEISSIER.

PROFESSEURS

Cliniques médicales.....	MM. BARD.
Cliniques chirurgicales.....	ROQUE.
Clinique obstétricale et Accouchements.....	TIXIER.
Clinique ophtalmologique.....	BERARD.
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques.....	COMMANDEUR.
Clinique neurologique et psychiatrique.....	ROLLET.
Clinique des maladies des femmes.....	NICOLAS.
Clinique des maladies des enfants.....	LEPINE (J.)
Clinique d'oto-rhino-laryngologie.....	WEILL.
Clinique des maladies des voies urinales.....	POLLOSSON (M.).
Clinique chirurgicale, infantile et orthopédie.....	LANNOIS.
Physique biologique, Radiologie et Physiothérapie.....	ROCHET.
Chimie biologique et médicale.....	NOVE-JOSSERAND
Chimie organique et Toxicologie.....	CLUZET.
Matière médicale et Botanique.....	HUGOUNENQ.
Parasitologie et Histoire naturelle médicale.....	MOREL.
Anatomie	BRETIN.
Histologie	GUIART.
Physiologie	LATARJET.
Pathologie interne.....	POLICARD.
Pathologie et Thérapeutiques générales.....	DOYON.
Anatomie pathologique.....	COLLET.
Chirurgie opératoire.....	MOURIQUAND.
Médecine expérimentale et comparée et bactériologie.....	PAVIOT.
Médecine légale.....	VILLARD.
Hygiène	ARLOING (F.).
Thérapeutique, hydrologie et climatologie.....	Etienne MARTIN.
Pharmacologie	COURMONT (P.).
	PIC.
	X.

PROFESSEURS TITULAIRES SANS CHAIRE

Chargé d'un cours de Pathologie externe.....	MM. VALLAS.
— — — Propédeutique de gynécologie.....	CONDAMIN.
— — — Chimie minérale.....	BARRAL.
— — — Urologie	GAYET.

CHARGES DE COURS COMPLEMENTAIRES

Anatomie topographique.....	MM. PATEL.
Orthopédie	LAROYENNE.
Puériculture et hygiène de la première enfance.....	CHATIN.
Chirurgie expérimentale.....	LERICHE.
Stomatologie	TELLIER.

AGREGES

MM.	MM.	MM.	MM.
NOGIER.	COTTE.	CORDIER (V.).	MAZEL.
GARIN.	DUROUX.	ROUBIER.	SANTY.
SAVY.	TRILLAT.	FAVRE.	DUNET.
FROMENT.	SARVONAT.	BONNET.	CHALIER (André).
THEVENOT (Lucien)	FLORENCE (G.).	RHENTER.	CHALIER (Joseph).
PIÉRY.	ROCHAIX.	LEULIER.	NOEL.
			CORDIER (Pierre).

M. BAYLE, secrétaire.

EXAMINATEURS DE LA THESE

MM. COURMONT, président; PIÉRY, assesseur;
ROCHAIX et ROUBIER, agrégés.

La Faculté de médecine de Lyon déclare que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'entend leur donner ni approbation ni improbation.

A LA MÉMOIRE DE MON PÈRE

A LA MÉMOIRE DE MON FRÈRE VOÏSLAV

A MA MÈRE ET A MON FRÈRE ALEXANDRE

En témoignage de profonde affection
et de reconnaissance pour leurs soins
dévoués.

A MES FRÈRES ET A MES SŒURS

A MON FIANCÉ

A MONSIEUR LE PROFESSEUR P. COURMONT

Médecin des Hôpitaux
Professeur d'Hygiène à la Faculté de Médecine de Lyon
Directeur de l'Institut Bactériologique
Officier de la Légion d'Honneur

En reconnaissance du bienveillant accueil qu'il nous a réservé à l'Institut Bactériologique et du grand honneur qu'il nous a fait en acceptant la présidence de notre thèse.

A MESSIEURS LES DOCTEURS

GATÉ

ET

PAPACOSTAS

Chef de Clinique à la Faculté
Chef de Laboratoire
à l'Institut Bactériologique

Préparateur
à l'Institut Bactériologique

L'un et l'autre nous ont prodigué leurs conseils et nous ont aidée de leur expérience dans le cours de nos recherches, après nous en avoir inspiré le sujet. Qu'ils soient assurés de nos sentiments de vive gratitude.

A TOUS NOS MAÎTRES

DES HÔPITAUX ET DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE

Nous garderons de leur enseignement plein de lumière et d'attrait, le souvenir le plus reconnaissant.

A NOS JUGES

L'HOMOGENÉISATION DES CRACHATS

PAR L'EAU DE JAVEL

pour la recherche du Bacille de Koch

INTRODUCTION

Le dernier Congrès national de la Tuberculose, tenu à Strasbourg, en juin 1923, a mis à l'ordre du jour la question des tuberculoses fermées. Cette conception a eu, depuis Grancher, ses défenseurs et ses adversaires.

Nous ne voulons pas prendre parti dans ce débat, mais nous estimons que le laboratoire doit avoir une première place dans cette discussion, et nous pensons, avec M. Bezançon, que : « Dans tous les cas, l'examen bactériologique des crachats doit être pratiqué, et pratiqué à plusieurs reprises, en faisant suivre, dans les cas négatifs, la recherche par les méthodes usuelles, par celle de la méthode d'homogénéisation et de centrifugation, et même aussi, si cette dernière ne donne pas de renseignements, par l'inoculation au cobaye ; qu'on trouvera ainsi les bacilles dans les crachats, dans un grand nombre des cas qu'on aurait autrefois qualifiés de tuberculoses fermées. »

Il est certain, comme le demande M. Rist, qu'avant d'étiqueter tuberculeuses des affections pulmonaires dont l'étiologie est douteuse, on doit rechercher, par tous les moyens que le laboratoire met à notre disposition, et s'efforcer de trouver, dans les excréta bronchiques, l'agent pathogène spécifique de la nature des lésions, en l'espèce le bacille de Koch.

Il faut reconnaître, toutefois, avec Sergent, que le fait de « ne pas trouver de bacilles ne signifie pas qu'il n'y en a pas ; les bacilles peuvent être très rares, n'être présents que par intermittences ». D'où la nécessité de soumettre, et à diverses reprises, aux méthodes les plus sûres les produits pathologiques de tous les malades suspectés de tuberculose, avant de poser un diagnostic ferme.

A ce point de vue, l'homogénéisation offre le grand avantage de faire porter l'examen sur une grande quantité de produits expectorés, où de rares bacilles pourraient ne pas être décelés par un simple examen direct.

Systématiquement employé dans les cas douteux, ce procédé sûr lèvera bien souvent le voile cachant la signature de la maladie.

Et si, aux qualités de rigueur et de justesse, la méthode ajoute les avantages de simplicité et de rapidité, ses services seront plus grands encore.

En effet, pour les laboratoires de Dispensaires, où il faut avoir la certitude rapide de la présence ou de l'absence de bacilles, l'examen direct, souvent négatif, ne suffit pas. Une méthode d'homogénéisation, présentant les qualités énumérées plus haut, serait ici

d'un précieux secours et il faut reconnaître que le travail de dépistage y gagnerait.

Il faut dire, avec Genévrier : « Pour simplifier la besogne de la laborantine dans les dispensaires, il me paraît logique de ne lui demander des examens directs que dans les cas où la présence des bacilles semble probable ; dans les cas très nombreux, où, d'après l'examen clinique, le malade ne semble pas devoir présenter une expectoration bacillifère, il faut d'emblée une homogénéisation. »

Une technique simple et rapide aiderait singulièrement dans cette tâche.

Au cours de la dernière année de nos études, MM. Gaté et Papacostas, à l'Institut Bactériologique de Lyon, attirèrent notre attention sur une nouvelle méthode de recherche du bacille de Koch par enrichissement des crachats, alliant à l'exactitude scientifique qu'exige l'établissement d'un diagnostic rigoureux, les avantages de rapidité et de simplicité que réclame l'œuvre de lutte anti-tuberculeuse.

M. Gaté nous incita à poursuivre des recherches sur l'homogénéisation des produits expectorés à l'aide de l'eau de Javel. Aimablement chargée, par M. le Professeur P. Courmont, de cette partie du service bactériologique de l'Institut, nous nous sommes, dès lors, appliquée à soumettre, systématiquement, à l'examen nouveau les sécrétions pathologiques qui nous furent confiées.

Dans leur communication à la Société de Biologie de Lyon, du 15 décembre 1923, MM. Gaté et Papacos-

tas, après avoir indiqué le principe de la méthode, ont bien voulu consigner nos premiers résultats.

L'objet de notre travail est d'exposer, dans ses détails, le procédé d'homogénéisation à l'eau de Javel, et d'apporter des conclusions tirées d'une longue pratique de cette méthode. Notre étude sera précédée d'un historique des procédés d'homogénéisation, au cours duquel nous mettrons en valeur les essais qui ont précédé les nôtres dans la même voie.

Nous devons signaler, en passant, que la grande majorité des crachats envoyés à notre examen provenait du Dispensaire anti-tuberculeux de l'Institut bactériologique de Lyon. La rapidité de notre méthode nous a permis de transmettre les résultats des recherches, dans le plus bref délai possible, donnant ainsi la preuve de sa valeur pratique.

I

Définition, But et Principe de l'Homogénéisation.

Historique et Etude des divers procédés.

L'homogénéisation des crachats a pour but de transformer la masse compacte ou de consistance inégale des produits expectorés en un milieu fluide, homogène et de teneur bacillaire également répartie.

Les bactériologistes ou praticiens, qui recherchent le bacille de Koch, rencontrent plusieurs difficultés ou causes d'erreur inhérentes à l'état même des sécrétions pathologiques qu'ils observent. Celles-ci sont bien souvent réduites, n'offrent, au milieu d'amas cellulaires ou muqueux, que quelques points épars de purulence; et même, sur les expectorations franchement caséueuses, l'examen direct est forcément insuffisant, puisqu'il porte sur de minimes prélèvements : d'où l'avantage d'opérer sur une grande quantité de crachats, afin de ne pas laisser passer les bacilles isolés. Il faudrait, comme le dit Gaussel, pouvoir « grouper les bacilles

épars ». Dans les cas douteux, une méthode permettant de faire porter l'examen sur la totalité des produits expectorés par les malades, rendrait plus sûre la découverte des bacilles ; c'est à ce point de vue que l'on a pu dire : « Une homogénéisation vaut dix examens directs ».

Ces inconvénients de l'examen direct, qui risquent de porter sur des fragments pauvres ou même stériles en bacilles, engagèrent, depuis longtemps, les observateurs à rechercher un procédé susceptible de faire porter l'examen microscopique sur des produits plus riches en agents pathogènes.

L'invention de la méthode est due à l'observation d'un fait de médecine expérimentale. En 1885, DEUTSCHMANN remarquait que les animaux se tuberculisaient plus facilement avec des produits qui avaient subi une décantation naturelle par le fait du repos ; les parties inférieures déposées semblaient mieux transmettre la maladie. BIEDERT, élève de Deutschmann, pensa, d'après cette observation, « *que c'était dans les dépôts que les bacilles devaient être les plus aisément décelés* ».

C'est alors que naquit la première méthode d'homogénéisation, dont Biedert consigne les résultats dans le *Berliner Klinische Wochenschrift* (1886). Cet auteur faisait subir à l'expectoration une fluidification préalable avec une solution de soude caustique, puis il abandonnait les crachats, ainsi traités, pendant vingt-quatre heures ; il se formait un dépôt qu'il ne restait plus qu'à examiner.

Cette aïeule des méthodes contient les deux grands principes des procédés d'homogénéisation, à savoir :

1° Détruire le stroma de mucine qui emprisonne le bacille, le *fluidifier*. Cette première phase constitue l'*homogénéisation* proprement dite.

2° *Collecter* les bacilles épars dans cette masse fluide, en les rassemblant sous un volume infime. Cette deuxième phase constitue le temps de *concentration*.

Les méthodes qui ont suivi se sont différenciées de celle-ci par des modifications apportées, soit au premier, soit au second de ces temps.

Certains auteurs ont fait subir des changements au premier temps. Les uns fluidifiaient, à l'aide d'un alcalin, les autres, au moyen de la chaleur (Dahmen, 1891), les derniers enfin, par l'intermédiaire de ferments (Spengler employait la pancréatine, 1896 ; Jousset, la pepsine, 1903).

Le second ordre de changements, apportés par les observateurs, vise la seconde phase, à savoir la collection des bacilles. Les premiers qui ont suivi Biedert, ont appliqué le principe de la sédimentation simple, mais celle-ci fut rapidement abandonnée, parce que trop longue ; elle fut remplacée par le procédé de la centrifugation, beaucoup plus rapide. Certains, dans la suite, introduisirent l'idée de la filtration sur bougie (Nebel).

Mais bientôt, la notion de *densité de l'homogénéisation* apporta un élément nouveau. NEBEL fut le premier (1903) à appeler l'attention des observateurs sur cette notion. DILG vint ensuite déterminer la densité du bacille tuberculeux qu'il prétend osciller entre

1010 et 1080. En France, BEZANÇON et PHILIBERT sont revenus sur cette question de la densité, et, de fait, l'importance de cette notion ressort dans la pratique; si le liquide homogénéisé a une densité égale à celle des bacilles tuberculeux, ceux-ci resteront mélangés à la totalité de la préparation, sans se collecter. Si, au contraire, on modifie la densité du milieu, les bacilles plus lourds ou plus légers, suivant le cas, se déposeront ou remonteront à la surface; d'où, deux sortes d'homogénéisations : les *homogénéisations légères*, où le bacille plus lourd se trouve dans le culot, et les *homogénéisations lourdes*, où le bacille plus léger monte à la surface.

Le premier type est réalisé par la méthode de Bezançon et Philibert, qui rend le milieu homogénéisé plus léger que le bacille par addition d'alcool. *C'est la collection bacillaire par en bas.*

Le second type se trouve matérialisé dans le procédé de Couratte-Arnaude, qui ajoute de l'éther (1902), de Haserodt, de Jacobson, qui utilisent la ligroïne. *C'est la collection bacillaire par en haut.*

Voici donc envisagées les grandes phases d'évolution dans les procédés d'homogénéisation. Nous allons indiquer maintenant rapidement les diverses méthodes employées jusqu'à ce jour. Nous ne saurions mieux faire que de suivre l'excellente étude et la classification adoptée par MM. Gaussel et Corone (1). en y ajoutant la description de procédés nouveaux et intéressants.

(1) Gaussel et Corone. - L'Homogénéisation des crachats tuberculeux, *Revue de la Tuberculose*, Janvier 1913.

Méthodes d'Homogénéisation.

PREMIER GROUPE

Méthodes qui emploient les Alcalins.

a) *Méthode de Biedert (1886).*

Crachats	cc.	15
Eau	cc.	30
Lessive de soude à 0,02 %	gouttes	X

Soumettre à l'ébullition en ajoutant, peu à peu, 60 à 80 cc. d'eau. Chauffer jusqu'à l'homogénéisation complète, laisser reposer 24 à 48 heures et examiner le dépôt.

b) *Méthode de Couratte-Arnaude (1902).*

Crachats	cc.	10
Eau	cc.	100
Lessive de soude	gouttes	X

Traiter ensuite 20 cc. de ce liquide refroidi par :

Acide acétique	gouttes	IV
Ether	cc.	4

Emulsionner, en agitant, dans une éprouvette à décantation et laisser reposer.

Le précipité monte à la surface ; on reprend le précipité et on le redissout par la soude ; on met en contact

avec de l'éther ; on émulsionne de nouveau et on laisse reposer. A la limite de séparation des deux liquides, l'éther formant la couche supérieure, il se forme une pellicule bacillifère que l'on décante et que l'on examine.

Cette dernière méthode est donc caractérisée par une *double homogénéisation*, portant d'abord sur le crachat, ensuite sur le premier dépôt bacillifère. Il s'ensuit une meilleure concentration. C'est donc là une *méthode très rigoureuse, mais délicate*, sinon de durée un peu longue. Ajoutons qu'elle entre, par l'emploi de l'éther, dans le groupe des homogénéisations dites légères.

c) *Doppelméthode d'Ellermann-Erlandsen.*

On traite les crachats par la soude, on centrifuge, on reprend le culot qui est soumis à nouveau à l'action de la soude ; on centrifuge une seconde fois, et ce dernier dépôt obtenu est coloré et examiné.

d) *Méthode de Bezançon et Philibert (1911).* — Mesurer le volume du crachat et dix fois son volume d'eau. Verser dans une capsule le crachat, la moitié de l'eau et autant de gouttes de lessive de soude qu'il y a de centimètres cubes de crachats.

Chauffer doucement, environ dix minutes, en agitant et versant peu à peu le reste de l'eau.

On laisse refroidir et on prend la densité ; si celle-ci dépasse 1004, ajouter la quantité d'alcool à 50° nécessaire à la ramener à 1000.

On centrifuge et on examine le culot après la coloration classique.

e) Nous étudierons, dans ce paragraphe une méthode intermédiaire à ce premier groupe, dit des alcalins, et au groupe suivant, de l'antiformine.

C'est le PROCÉDÉ de DE LANNOÏSE et GIRARD (1900).

Les auteurs reprochaient à la méthode de la solution dans un alcalin chaud et concentré les inconvénients suivants :

1° L'action trop énergique de la soude, modifiant la morphologie du bacille de Koch.

2° Une adhérence trop faible du dépôt sodique aux lames.

3° Des lavages difficiles et des modifications profondes des éléments histologiques.

Ces deux observateurs ont alors cherché un dissolvant à froid du mucus bronchique et du pus, n'ayant pas les susdits inconvénients. Et si nous insistons sur leur méthode, c'est qu'elle a été, en partie, *précurseur de la nôtre*. En effet, le réactif choisi par eux est *l'hypochlorite alcalin de soude, l'eau de Javel*, qui a le grand avantage d'être un produit commercial répandu (les auteurs prétendent, toutefois, qu'il faut se méfier des eaux de Javel bon marché, très faibles en hypochlorite de soude).

Cependant, de Lannoïse et Girard n'ont pas employé uniquement l'eau de Javel pure; *ils s'aident, dans un second temps, d'une solution de soude. C'est par là que notre procédé diffère du leur*. Mais, par contre, *en alliant un hydrate alcalin à l'hypochlorite, ils réalisaient déjà la préparation connue sous le nom d'antiformine* et précédaient ainsi tous les observateurs allemands qui se sont attribué la découverte de la méthode à l'antiformine.

Technique de de Lannoïse et Girard

Volume de crachat plus dix fois son volume d'eau de Javel au tiers ; agiter ; en un quart d'heure, l'homogénéisation est faite. Laisser reposer 24 heures, centrifuger. Décanter et garder avec le culot 2 à 3 cc. de liquide chloré. Ce chlore est alors transformé en chlorure de sodium, par l'addition de V à VI gouttes de la solution de soude normale (40 gr. de soude pure par litre), la réaction est immédiate. Le tube est rempli d'eau stérilisée et centrifugé une dernière fois ; l'eau est décantée, le dépôt étalé sur une lame, fixé et coloré.

DEUXIÈME GROUPE

Méthodes à l'Antiformine.

L'antiformine est un produit dont la composition varie avec chaque auteur, non pas quant à la nature des réactifs employés, mais quant à leurs proportions. La formule arrêtée par Quelmé et Houal semble être la meilleure :

Extrait de Javel à 40 gr. de chlore environ	
pour cent	cc. 660
(C'est l'extrait de Javel ordinaire du commerce.)	
Eau distillée	cc. 300
Soude caustique	grammes 40

a) LES PREMIERS AUTEURS qui ont employé l'antiformine semblent être UHLENHUT ET XYLANDER, (1909) sans, parler des PRÉCURSEURS, DE LANNOÏSE ET GIRARD. Ils employaient l'antiformine à 15 %.

b) LORENTZ mélange 2 à 10 cc. de crachats avec 2 à 3 fois leur volume d'antiformine à 15 %, soumet à l'ébullition et centrifuge. Son procédé donne un petit culot, il est rapide et de plus la préparation adhère bien sur la lame, avantages qui sont à considérer.

c) Procédé d'homogénéisation à l'antiformine de QUELMÉ ET HOUAL.

Leur technique s'inspire des procédés à l'antiformine (voir plus haut leur formule) modifie la densité du milieu par l'alcool et obtient la collection bacillaire par l'éther.

Les auteurs prétendent avoir eu 40 % de résultats positifs ; les bacilles sont parfois déformés et agglutinés.

d) *Procédé simplifié d'Arloing et Melek.*

Les auteurs emploient la solution d'antiformine à 20 et 25 % ; ils recommandent la technique suivante :

Agitation pendant dix minutes, suivie d'une centrifugation d'égale durée ; lavage du culot à l'eau salée, centrifugation terminale.

e) Rappelons qu'à la méthode à l'antiformine, plusieurs auteurs ont apporté des *modifications visant la collection des bacilles*. Haserodt, JACOBSON, ajoutent de la ligroïne qui permet une émulsion légère et la collection des bacilles dans les niveaux supérieurs du liquide. Koslow remplace la ligroïne par un mélange d'acétone — éther. Loeffler propose l'addition d'alcool-chloroforme au liquide fluidifié.

Ces dernières années enfin, *les auteurs allemands, jusqu'alors fidèles à la méthode à l'antiformine, se sont demandé si ce réactif est nécessaire pour l'enri-*

chissement en bacilles des crachats tuberculeux. Successivement, LORENTZ (1) et ROSENKRANTZ (2) se sont posé cette question, et tous deux semblent se rallier à l'emploi de l'*hypochlorite de soude seul*. Ces observateurs ont eu d'excellents résultats et ont conclu que le procédé avait l'avantage d'être moins coûteux que celui à l'antiformine, d'employer un produit plus frais et d'être plus rapide.

Nous tenons à signaler cet essai d'homogénéisation à l'eau de Javel qui a précédé le nôtre. Il n'est peut-être pas très logique, dans l'énumération des méthodes à l'antiformine, d'étudier un procédé utilisant une autre substance que celle-ci ; mais les essais de Lorentz et Rosenkrantz, ayant découlé du procédé à l'antiformine, il nous a paru rationnel d'envisager ici cette question.

TROISIÈME GROUPE

Méthodes employant les Ferments.

3) SPENGLER utilise la *pancréatine* additionnée d'acide phénique. La fluidification des crachats est obtenue par digestion artificielle. L'acide phénique agit comme désinfectant, il détruit les bactéries banales, mais respecte le bacille ; il diminue aussi le volume du culot.

(1) Lorentz. — *Münchener Medizinische Wochenschrift*, n° 35, 1921, p. 1119.

(2) Rosenkrantz. — *Münchener Medizinische Wochenschrift*, n° 12, 24 Mars 1922, p. 124.

b) JOUSSET emploie le suc gastrique dont l'action est renforcée par un séjour à l'étuve pendant trois heures.

c) NEMMSEN et Martos-Lissowska se servent de trypsine-pancréatine.

d) Il faut enfin signaler, dans le même groupe, l'homogénéisation par *auto-digestion spontanée*. C'est la méthode de FAVRE et DEVUNS. Abandonnés à eux-mêmes à la température du laboratoire, pendant plusieurs jours, les crachats se séparent en deux couches : l'inférieure, pulvérulente, est riche en bacilles. De cette observation, les auteurs ont tiré leur méthode, en apportant au principe une légère modification. Ils étuvent les produits d'expectoration à 37° pendant 24 heures, au bout desquelles les deux couches se séparent. Dans nos recherches comparatives, nous avons utilisé cette méthode et en avons obtenu de bons résultats.

QUATRIÈME GROUPE

Méthodes employant la Chaleur.

Ces procédés sont basés sur l'autolyse des crachats à la chaleur. Ici, les auteurs emploient une température plus élevée que pour le système précédent.

Nous avons à signaler DAHMEN (1891) et HEMPEL (1902) comme précurseurs. En France, BESANÇON, MATHIEU et PHILIBERT soumettent les crachats à la température de 50° et apportent des conclusions favorables à leur procédé.

5° NOUS NE FERONS QUE SIGNALER pour mémoire les nombreux essais d'homogénéisation tentés avec LES SUBSTANCES LES PLUS VARIÉES : l'eau oxygénée, l'acide phénique, l'alcool, la formaline, l'hyposulfite de soude, la bile, etc...

Nous voudrions cependant décrire un procédé intéressant d'homogénéisation, celui de CORDONNIER, à base de borate de soude. L'auteur préconise la solution suivante :

Acide borique —.....	gr.	50
Borate de soude	gr.	50
Eau distillée q. s. p.	gr.	500

ou encore celle-ci :

Hypochlorite de chaux	gr.	50
Borate de soude	gr.	50
Eau distillée q. s. p.	gr.	500

On met les crachats en présence de 50 cc. de la solution de Cordonnier durant 12 heures au minimum. On décante, et on centrifuge durant une heure la partie inférieure de la solution. On étale le culot et on colore suivant le procédé classique.

Cette méthode, qui donne d'excellents résultats, a le gros inconvénient d'être longue.

Voilà donc, passées en revue, les principales méthodes avec leur technique. La valeur de chacune d'elles a été différemment interprétée, suivant les observateurs. En fait, on doit considérer plusieurs points dans l'appréciation de chaque procédé.

Si l'on veut, par exemple, obtenir la *concentration la plus forte* des bacilles, les procédés à la lessive de soude, et particulièrement celui de Bezançon et la

double méthode de Couratte-Arnaude semblent être supérieurs.

Si l'on vise la *rapidité et la simplicité*, le procédé d'Arloing et celui de Lorentz sont préférables.

M. Bezançon pense que l'inégalité des résultats tient à la différence de densité des liquides observés. M. Gaussel croit que la viscosité intervient aussi en gênant la collection des bacilles.

En introduisant, dans l'arsenal du laboratoire, un nouveau procédé d'homogénéisation, nous n'avons pas la prétention de faire oublier les méthodes préexistantes. Toutefois, celles qui sont employées jusqu'à ce jour présentent quelques inconvénients dans leur application pratique, et celle que nous proposons réunit avant tout des avantages de facilité d'emploi, qui doivent la faire préférer.

II

Méthode d'Homogénéisation des Crachats par l'Eau de Javel.

Au cours de notre rapide énumération des procédés d'enrichissement des crachats, nous avons tâché de mettre en valeur les expériences qui ont été faites avant les nôtres, à l'aide de l'eau de Javel.

Plusieurs méthodes, celle de de Lannoise et Girard, celle de Cordonnier, pour ne citer que les deux principales, utilisent les hypochlorites, mais les associent à d'autres réactifs.

Un procédé qui a beaucoup plus de similitude avec le nôtre est celui que Lorentz, puis Rosenkrantz ont annoncé, comme devant remplacer la méthode à l'antiformine. Ces deux observateurs ont utilisé une solution d'hypochlorite de soude, dont la formule a été arrêtée par eux-mêmes, et dont la teneur en chlore ne dépassait pas 2 %. Lorentz déclare qu'avec un tel indice chlorométrique il est inutile de diluer davantage pour l'homogénéisation. Nous n'avons pu avoir de détails plus précis sur leur technique ; voici l'exposé de la nôtre.

Réactifs et Matériel.

Pour réaliser l'homogénéisation à l'aide de l'hypochlorite de soude, nous nous sommes adressée à la solution commerciale de ce réactif, connue sous le nom d'eau de Javel. Nous l'employons pure, aussi est-il nécessaire de préciser que nous n'utilisons pas les solutions concentrées d'hypochlorite, appelées *extraits de Javel*, trop fortes. Celles-ci ont un degré chlorométrique de 30° par litre, pouvant aller jusqu'à 50° et plus. Nous nous servons des solutions plus faibles, qui sont les véritables *eaux de Javel*. Il est utile de connaître que leur teneur en chlore varie avec chaque fabrication, aussi, pour la constance des résultats, est-il recommandable de s'en tenir à la même marque.

Nous avons fait titrer, une fois pour toutes, la solution qui nous a toujours été livrée par le même fournisseur pour nos expériences. La teneur en chlore a été trouvée égale à 18,6 par kilo (le kilo de la solution commerciale correspond à une quantité légèrement inférieure au litre).

Quant au matériel nécessaire à nos expériences, il est tout à fait réduit : un verre à pied gradué, un agitateur, tubes à centrifuger, centrifugeuse électrique, alcool dénaturé ou absolu.

Technique.

PREMIER TEMPS. — Le but principal de l'homogénéisation étant de faire porter l'examen sur de grandes quantités de produits expectorés, il faut donc opérer sur le plus fort volume de crachats possible. Si l'expectoration est minime ou moyenne, il y a avantage à la soumettre en totalité aux manipulations ; si elle est très abondante, on prélève les parties les plus purulentes.

Ces crachats sont versés dans un verre gradué et on leur ajoute leur volume d'eau de Javel *pure*.

On fait un mélange intime à l'aide d'un agitateur en verre ; il se produit un dégagement chloré, la mixture prend une teinte brunâtre, qui s'éclaircit à mesure qu'avance la dissolution des masses grumeleuses. Au bout d'une minute, la fluidification est complète et il n'existe plus dans le verre à expérience qu'un liquide louche et homogène.

C'est le premier temps de l'expérience, la phase de fluidification, en laquelle réside l'élément principal de notre méthode. Avant de déterminer la proportion optima d'eau de Javel, nécessaire à amener la plus complète fluidification, il nous a fallu tâtonner.

Nos essais ont été nombreux. Nous avons fait d'abord une série de tentatives avec des mélanges à 25 % d'eau de Javel ; dans ces expériences, le réactif

ne représentant que le quart des substances à fluidifier, n'avait point une action suffisante. La fluidification était très lente et, même après une longue attente, on n'obtenait qu'un liquide épais, difficile à centrifuger. Nous avons, d'ailleurs, soumis à l'action de la force centrifuge de pareilles préparations et nous avons recueilli un gros culot de matières consistantes, dont nous n'avons pu fixer même la plus petite partie sur la lame.

Après cette épreuve, nous avons tenté une autre expérimentation, en nous servant d'un mélange à 50 % ; là encore, nous avons eu un échec. Les crachats ne se clarifiaient qu'après un long temps, les préparations étaient épaisses et n'adhéraient pas aux lames.

Le stroma de mucine, les masses fibrino-purulentes ne furent véritablement détruites qu'à notre troisième série d'essais, qui nous donna l'indication définitive. C'est le mélange à 100 % qui nous a fourni le seul résultat susceptible d'être retenu. Avec une telle préparation, on obtient la presque limpidité de l'expectoration, en un temps très minime, variant d'une minute, pour les crachats les moins épais, à deux à trois minutes pour les plus purulents.

L'action si rapide du réactif paraît peut-être un traitement trop énergique, qui risque d'amener, non seulement la dissolution des éléments histologiques, mais également la bactériolyse des agents pathogènes, spécifiques de la tuberculose, que l'on veut rechercher. S'il en était ainsi, un pareil procédé n'atteindrait pas son but ; mais l'expérience nous a montré que les

bacilles ne subissent aucune modification morphologique, à l'inverse de ce qu'il arrive dans certains procédés d'homogénéisation à chaud.

C'est qu'en effet *l'application d'eau de Javel* dans notre méthode *doit se faire à froid*. La réaction étant immédiate, il est inutile de l'aider par l'intervention d'autres agents physiques.

DEUXIÈME TEMPS. — Il n'est pas nécessaire d'attendre la fin du dégagement du gaz chloré pour passer à la seconde phase de l'expérience. On laisse, si l'on veut, reposer un instant la préparation et on la verse dans un ou plusieurs tubes à centrifuger, suivant que le volume du liquide homogénéisé est plus ou moins grand. Il y a, d'ailleurs, toujours avantage à avoir deux culots au moins, afin de se réserver la possibilité d'un second examen, si le premier ne donne pas toute satisfaction. Nous recommandons d'employer un matériel aseptisé, au préalable, par l'ébullition, afin de se mettre à l'abri des souillures extérieures, pouvant être causes d'erreur. Cette précaution est aussi bien de mise, pour les instruments qui servent à la centrifugation que pour les verres à expérience et les agitateurs employés dans le premier temps.

On centrifuge 8 à 10 minutes ; nos expériences ayant été faites dans un laboratoire muni d'une centrifugeuse puissante, ce temps a été bref. Mais il est évident qu'avec un instrument moins fort ce temps de concentration doit être prolongé. On se rappellera que la rapidité et la valeur d'une centrifugation sont proportionnelles au régime des tours de la centrifugeuse.

C'est la seconde phase de l'opération ou concentration bacillaire. Les corps des bacilles, étant plus lourds que le liquide homogénéisé, tombent au fond du tube et forment, avec le résidu des éléments histologiques, un culot qui sera soumis, plus tard, à l'examen microscopique.

Les auteurs, qui ont étudié avant nous l'action de l'hypochlorite de soude, Lorentz en particulier, ont prétendu que les crachats ainsi homogénéisés formaient un liquide de densité plus faible que celle des bacilles. C'est en partant de cette considération que nous avons simplement soumis à centrifugation la masse fluidifiée. Mais nous nous sommes rendu compte, dans la suite, qu'il y aurait un *grand avantage à aider la collection des bacilles, en accentuant la légèreté du liquide homogénéisé par addition d'alcool* ; sans modification préalable de la densité du milieu, le culot était bien moins riche en bacilles.

Nous avons commencé par ajouter quelques gouttes d'alcool, mais en nous basant sur les recherches de Bezançon et Philibert, nous sommes arrivé à déterminer la *quantité optima d'alcool à ajouter ; celle-ci doit être égale aux quantités respectives des crachats et d'eau de Javel utilisée.* Nous avons donc, dans le tube à centrifugation, un tiers de crachats, un tiers d'eau de Javel et un tiers d'alcool. Nous nous sommes servi en premier lieu de l'alcool absolu, puis nous avons reconnu les services équivalents que l'on peut tirer de l'alcool dénaturé et, dès lors, nous nous sommes arrêté à l'emploi de ce dernier, moins coûteux.

TROISIÈME TEMPS. — L'homogénéisation et la concentration bacillaire étant réalisées, on décante le liquide centrifugé et il y a intérêt, alors, de laver rapidement le culot au sérum physiologique. Cette opération le débarrasse de l'eau de Javel, qui pourrait gêner la fixation de l'étalement. On évacue le sérum de lavage, et l'on prélève une parcelle du culot avec un fil de platine flambé. On fait l'étalement sur lame, on fixe à la chaleur et il est à remarquer que toutes nos préparations ont très bien adhéré. On procède ensuite à l'application à chaud de la fuchsine phéniquée de Ziehl-Neelsen. On soumet alors l'étalement, en premier lieu à l'action de l'alcool absolu, afin d'éliminer les acido-résistants non spécifiques, et pour assurer à la préparation une plus parfaite fixité. On passe alors à l'acide nitrique au tiers ; on recolore le fond au bleu, de méthylène ; on sèche et l'on examine avec l'objectif à immersion.

Action de l'Eau de Javel
sur les éléments histologiques.
Cytolyse.

Nous avons assisté à la fonte macroscopique du crachat, mais il y a aussi, sous l'action du chlore, *une véritable fonte histologique*, qui amène un changement profond dans la morphologie cellulaire.

Les éléments histologiques, soumis à l'action du liquide chloré, ne sont vraiment plus que des détrit

informes, teints en bleu par la coloration de fond.

De Lannoïse et Girard ont prétendu avoir retrouvé intacts, après l'application de leur procédé qui comporte l'hypochlorite de soude, les éléments cellulaires (leucocytes) et les cellules épithéliales (bronchiques ou alvéolaires). Nous n'avons jamais fait de telles constatations ; nous n'avons pas relevé, dans la série de nos recherches, des formes rappelant une constitution cellulaire. *Il y a toujours cytolyse complète avec l'emploi de l'eau de Javel pure*, utilisée en quantité égale à celle du crachat ; d'ailleurs, le dégagement de chlore, que l'on observe au cours de l'expérimentation, et qui dure même après la centrifugation, témoigne de la destruction intense des éléments organiques, de même que le fort dégagement de chaleur qui accompagne la réaction.

**Action de l'Eau de Javel sur les acido-résistants,
en particulier, les Bacilles de Koch
et sur les autres agents microbiens.**

L'eau de Javel paraît complètement détruire la flore microbienne banale des crachats tuberculeux, mais respecte le bacille spécifique, du moins dans sa forme. Dans aucun examen microscopique, portant sur le culot de produits homogénéisés avec notre méthode, nous n'avons retrouvé de traces des hôtes communément observés à l'examen direct : pneumocoques,

streptocoques, staphylocoques et représentants de la flore buccale. Seuls les acido-résistants restent intacts sous l'action du chlore. (Les expériences ont porté sur les espèces suivantes : Marpmann, b. Grass bacille Moëller, Timothée b., Beurre Rabinovitch, Milch Moëller, Tobler, Lombardo Pelligrini, Pseudotub. Preiz, Pseudo-perlsucht Moëller.)

Mais *si l'eau de Javel respecte leur morphologie, elle détruit du moins leur vitalité*, tout comme celle du bacille de Koch.

Aux recherches microscopiques, nous avons adjoint l'inoculation au cobaye, afin d'être assurée de l'action bactéricide de l'eau de Javel. Il ressort de ces expériences que la solution d'hypochlorite de soude exerce une stérilisation complète de l'expectoration, même et surtout au point de vue de l'agent pathogène de la tuberculose.

En effet, aucun des cobayes inoculés n'a été tuberculisé, bien qu'un échantillon de chaque culot, examiné au microscope, nous ait montré la présence du bacille de Koch. Nous avons, d'ailleurs, pour tenter ces expériences, pris des crachats déjà reconnus fortement bacillifères à l'examen direct. Les cobayes n'ont pas présenté même la plus petite réaction ganglionnaire ou locale, preuve de l'antisepsie absolue réalisée par l'hypochlorite de soude. Cette action antiseptique est très rapide, puisqu'elle s'opère dans le temps minime de l'homogénéisation.

On pourrait, sans doute, étendre cette donnée à l'important chapitre de l'hygiène que constitue la

stérilisation des sécrétions tuberculeuses. On réaliserait, en effet, avec l'eau de Javel, d'une façon pratique et peu coûteuse, la désinfection des crachoirs.

Des auteurs américains, Cowray, Conroy, Bernice, etc., ont, d'ailleurs, récemment conseillé l'utilisation du chlore pour détruire les bacilles dans les matières usées des sanatoria.

Toutefois, si nous-même n'avons pas observé de troubles chez les animaux inoculés, d'autres auteurs, MM. Moussu et Goupil (1), ayant injecté au cobaye des produits tuberculeux traités par le chlore, ont noté des troubles locaux qu'ils ont rapportés à des phénomènes de congestion au point d'inoculation et des troubles généraux dus à des phénomènes toxiques. Ils n'ont point relevé, néanmoins, de lésions organiques véritables, comparables à celles que provoquent les bacilles tuberculeux vivants.

Nous avons également avancé que la forme bacillaire n'était, en aucune façon, modifiée par l'hypochlorite de soude. De fait, sur aucune préparation, nous n'avons relevé de formes dissociées ou granuleuses, comme Moussu et Goupil en ont observé après action du chlore sur une culture humide et fraîche du bacille tuberculeux. Ces auteurs soulignent, il est vrai, que cette action chimique fut prolongée ; il n'est peut-être, alors, pas étonnant que l'aspect normal du bacille ait subi de profonds changements.

Dans notre procédé, qui est tout particulièrement rapide, l'action du réactif est vraisemblablement in-

(1) Moussu et Goupil. — Action du chlore sur le bacille de Koch. C. R. de la Séance du 9 Décembre 1907 à l'Académie des Sciences.

suffisante à attaquer les formes bacillaires ; pourtant, il nous est arrivé de laisser l'eau de Javel en contact avec les crachats jusqu'à vingt-quatre heures, et néanmoins les bacilles furent trouvés dans leur forme parfaite.

Nous n'avons pas non plus relevé, comme d'autres observateurs, des agglutinations en paquets ; au contraire, les bacilles sont bien séparés les uns des autres et apparaissent sous leur aspect caractéristique.

Nous devons ajouter que le traitement au chlore n'agit en aucune façon sur la teinte que prend le bacille soumis à la fuchsine phéniquée ; si la coloration est bien faite, si, en particulier, le chauffage n'est pas prolongé, le bacille garde le beau rouge qui l'imprègne.

Nous allons, maintenant, examiner la valeur de la méthode pour la recherche de l'agent de la tuberculose, et sa comparaison avec d'autres procédés.

III

Résultats de la Méthode à l'Eau de Javel. Comparaison avec d'autres Procédés classiques.

Nos recherches ont porté sur de très nombreux échantillons de crachats. Parmi ceux-ci, nous n'avons évidemment retenu, pour l'homogénéisation, que les produits dont l'examen direct restait négatif. Le nombre de ces derniers s'est élevé à 200, et notre méthode nous a permis de déceler le bacille de Koch dans 37 d'entre eux ; ce total se répartit ainsi entre chaque qualité d'expectoration :

Crachats muco-purulents	20 positifs sur 100
Crachats purulents	7 » » 25
Crachats muqueux	5 » » 45
Crachats salivaires	4 » » 25
Crachats hémoptoïques	1 » » 5

Ces 37 examens positifs après homogénéisation, sur 200 examens directs restés négatifs, donnent un pourcentage de 18,5.

Ce chiffre, sensiblement égal, d'ailleurs, à celui qui est rapporté dans les conclusions des meilleures méthodes, peut paraître bas.

Dans l'estimation de nos résultats, il y a lieu de tenir compte de ce fait, sur lequel nous avons déjà attiré l'attention, que la majorité des expectorations analysées provenait des malades de dispensaires, suspects seulement, de tuberculose. Il est bien probable que dans le nombre de ces sujets, dont nos recherches contribuaient à faire le triage, quelques-uns n'étaient pas tuberculeux. Dans un service d'hôpital, où les malades sont étiquetés, le nombre des cas positifs eût été, sans doute, supérieur.

De plus, beaucoup des crachats examinés étaient représentés par des sécrétions purement salivaires ou muqueuses, qui livrent, d'ordinaire, difficilement leur secret. Ce genre d'expectoration était répété 70 fois sur les 200, soit donc 35 % ; et cependant notre méthode a permis d'en tirer quelques résultats positifs. cliniquement, les intéressés qui avaient fourni ces crachats étaient au début de leur maladie et ne présentaient que des signes stéthacoustiques très discrets ; il est donc précieux de noter la valeur qu'offre notre procédé pour aider le diagnostic précoce de la tuberculose pulmonaire.

La plus grande proportion des cas positifs a été fournie, évidemment, par les crachats muco-purulents et purulents, qui ont un pourcentage respectif de 50 et 12,5 sur le nombre total des crachats examinés. Le chiffre 7, qui représente le nombre d'examens positifs trouvés dans les crachats purulents, semble mi-

nime pour cette variété de crachats, qui sont communément les plus bacillifères, constitués qu'ils sont, en général, par du pus caverneux. Et cependant, quand on rapproche ces résultats du nombre total des crachats purulents observés, 25, on a un pourcentage de 24 %, assez élevé.

Nous n'apportons pas de chiffres sur la numération bacillaire des champs après homogénéisation. Mais nous pouvons dire, après des expériences multiples, ayant porté sur des crachats franchement bacillifères à l'examen direct, qu'à simple vue, les étalements de culos centrifugés étaient beaucoup plus riches que les étalements directs préalablement pratiqués. Il est, cependant, à noter que nous avons un enrichissement apérieur, depuis que nous aidons la collection des bacilles par adjonction d'alcool.

Voici, par ailleurs, les résultats que nous ont fournis d'autres méthodes classiques, prises comme termes de comparaison. Pour faire ces rapprochements, nous avons employé le procédé à la soude, de Bezançon et Philibert, et la méthode à l'étuvation, de Favre et Devens.

La quantité de crachats étant parfois très réduite, il nous a été difficile, et très souvent impossible, de diviser l'échantillon en vue de l'expérimentation comparative. Aussi, n'avons-nous pu multiplier ces recherches de contrôle.

De ce fait, nos expériences de comparaison ont porté seulement sur 26 cas. Sur ces 26 examens, nous avons 17 résultats négatifs avec l'application des trois méthodes : Bezançon, Favre, eau de Javel. L'homogénéisation

généisation ne s'est montrée positive que 9 fois, sur lesquelles le procédé de Bezançon nous a fourni 4 cas positifs, et le procédé de Favre, 7 ; par contre, l'eau de Javel a été positive les 9 fois sur 9.

Nous n'avons d'ailleurs nullement la prétention de conclure de ce nombre trop restreint d'expériences, à l'imperfection des méthodes que nous avons rapprochées de la nôtre.

La réelle supériorité de notre procédé se trouve dans ses qualités de simplicité de technique et de rapidité d'opération. En effet, le temps nécessaire à réaliser toutes les phases de la méthode que nous décrivons ne dépasse jamais 10 à 15 minutes. Les autres expérimentations demandent, certes, un temps plus long, celle de Favre en particulier, ou des manipulations plus variées, offrant plus de délicatesse, comme le procédé de Bezançon.

Nous nous permettrons de faire encore, au procédé à l'étuvation, le reproche de favoriser les pullulations microbiennes, sources de gêne pour l'examen microscopique.

Ce sont donc les avantages pratiques, de faire vite, simplement, d'être peu coûteuse, de réaliser la désinfection des crachats, qui feront apprécier la méthode à l'eau de Javel, d'autant plus que ces qualités s'allient aux caractères de précision et d'exactitude qu'exige la rigueur scientifique.

CONCLUSIONS

I. — Nous avons employé une eau de Javel du commerce, titrant 18°6 ; mélangée à froid aux crachats, elle amène leur fluidification et leur homogénéisation dans un temps très rapide.

II. — L'addition d'alcool absolu ou d'alcool dénaturé, dans une proportion déterminée, que l'expérience nous a permis de fixer, diminue, d'une manière convenable la densité du milieu par rapport à celle des bacilles de Koch. On peut alors très facilement, par centrifugation, isoler les bacilles.

III. — L'étalement du culot de centrifugation, desséché et fixé à la flamme, est coloré par le réactif de Ziehl à chaud, puis décoloré successivement à l'alcool absolu et à l'acide azotique au tiers, enfin recoloré à la solution de bleu de méthylène.

IV. — Les bacilles apparaissent en rouge sur fond bleu. Ils ne sont nullement modifiés ni dans leur volume, ni dans leur structure.

V. — Seuls les bacilles acido-résistants (Marpmann b., Grass bacille Møeller, Timothée b., Beurre Rabino-vitch, Milch Møeller, Tobler, Lombardo Pelligrini, Pseudotub. Preiz, Pseudo-perlsucht Møeller) partagent avec le bacille de Koch la propriété de résister à l'action de l'eau de Javel.

VI. — Les cellules et les autres éléments constitutifs des crachats sont détruits et lysés, au point qu'en dehors des bacilles de Koch, les préparations ne présentent que des amas informes, non identifiables, teints en bleu par le colorant de fond de la préparation.

VII. — Les bacilles de Koch sont tués en quelques minutes par l'eau de Javel. L'expérience nous a, en effet, montré que les crachats traités par l'eau de Javel ne tuberculisent pas le cobaye, quelle que soit leur richesse en bacilles de Koch.

VIII. — Nos recherches ont porté sur 200 crachats, où l'examen direct le plus minutieux n'avait pas permis de déceler de bacilles de Koch. Dans ces 200 cas, nous avons obtenu 37 examens positifs (18'5 %).

IX. — L'homogénéisation des crachats par l'eau de Javel donne des résultats sensiblement comparables à ceux fournis par les autres méthodes.

Le procédé a, sur les autres, l'avantage :

- a) d'être simple, à la portée de tous les praticiens.
- c) d'être peu onéreux et de ne nécessiter qu'un minimum de matériel.
- d) de stériliser les crachats examinés, ce qui n'est pas à négliger, au point de vue hygiénique.

LE PRÉSIDENT DE LA THÈSE

P. COURMONT

Vu :

LE DOYEN,
Jean LEPINE

Vu et permis d'imprimer :

Lyon, le 11 Janvier 1924.

LE RECTEUR, PRÉSIDENT DU CONSEIL DE L'UNIVERSITÉ,
CAVALIER

BIBLIOGRAPHIE

- ANGLADA. — Les nouvelles méthodes de recherche du B. K. dans les crachats. Procédés d'homogénéisation. *Archives générales de Médecine*, mai 1912.
- Communication à la Société des Sciences médicales de Montpellier, d'après analyse de *Province Médicale* du 16 novembre 1912.
- BEZANÇON et PHILIBERT. — Importance de la notion de densité pour la recherche du B. K. dans les procédés d'homogénéisation. *Société d'Etudes scientifiques sur la Tuberculose*, 6 avril 1911.
- BEZANÇON., PHILIBERT et GASTINEL. — Importance clinique de l'homogénéisation des crachats. *Bull. et Mém. de la Soc. Méd. des Hôp. de Paris*, nov. 1912.
- BEZANÇON et I. DE JONG. — *Traité de l'examen des crachats*, Masson, 1913.
- BEZANÇON et PHILIBERT André. — Revue critique des nouveaux moyens de diagnostic pratique de la tuberculose. *Journal Méd. franç.*, 15 janvier 1910.
- BEZANÇON, MATHIEU, PHILIBERT. — Autolyse des crachats tuberculeux à la température de 50°. Analyse *Revue de la Tuberculose*, 1922.
- CORONE. — L'homogénéisation des crachats tuberculeux. *Th. Montpellier*, 1912.

COURATTE-ARNAUDE. — Nouvelle méthode pour la recherche du bacille de Koch dans les crachats. *Gazette hebdomadaire des Sciences médicales de Bordeaux*, 1902.

— Procédé de recherche chorisométrique per ascensum. *Th. Bordeaux*, 1908.

COURMONT et POTET. — Bacilles acido-résistants de la nature. *Arch. de méd. exp.*, 1903.

COWRAY (M.), JOHN, CONROY, BERNICE, BRASTED et LAIRD (Arthur T.). — The destruction of tubercle bacilli in sewage by chlorine. *Americ. Rev. of Tuberc.*, vol. VI, n° I, p. 63, mars 1922, d'après analyse de la *Rev. de la Tuberc.* N° 2, 1923.

ELLERMANN et ERLANDSEN. — Nachweis von T. B. im Sputum. *Zeitschrift für Hygiene*, 1908, Bd. LXI, H. 2, p. 219.

FAVRE et DEVUNS. — Sur l'homogénéisation des crachats tuberc. par auto-digestion spontanée. *C. R. Soc. de Biologie*, 12 nov. 1921.

GAUSSEL et CORONE. — Homog. des crach. tuber. *Revue de la Tuberc.*, 1913, janv.

GATÉ et PAPACOSTAS. — L'homog. des crach. par l'eau de Javel. *C. R. Société de Biologie de Lyon*, 15 décembre 1923.

GENÉVRIER. — L'examen des crachats dans les Dispensaires. *Sect. d'Etud. scientif. de l'Œuvre de la Tub.* ; séance du 10 février 1923, in *Revue de la Tuberc.* N° 2, 1923.

JOUSSET (A.). — Sur une nouvelle méthode de recherche du bacille tuberculeux. *Bulletin et mémoires de la Société Médicale des Hôpitaux de Paris*, 1903, 9 janvier.

DE LANNOISE et GIRARD. — Nouvelle méthode pour la recherche des B. K. dans les crachats. *Presse Médicale*, 1900.

LUCAS. — De l'homog. des crachats et son importance clinique. *Thèse Paris*, 1913.

LORENTZ.— Ergänzung der Antiforminmethode zur Anreicherung der T. B. *Berliner Klin. Woch.*, 1911, n° 3, pp. 118-119.

— Est-ce que l'antiformine est nécessaire pour l'enrichissement du crachat tuberculeux ? *Münchener Medizinische Wochenschrift*, n° 35, p. 1119, 1921.

MOUSSU et GOUPIL. — Action du chlore sur le bacille tuberculeux. *C. R. de la séance du 9 décembre 1907 à l'Académie des Sciences*.

— Propriétés physiologiques des bacilles tuberculeux chlorés. *C. R. Acad. des Sciences*, 23 déc. 1907.

PHILIBERT (A.). — Le diagnostic précoce de la tuberculose pulmonaire par la recherche du bacille dans l'expectoration. *Revue de la Tuberculose*, 3^e série, t. I, 1920.

PIÉRY et MENDOUL. — Les variations morphologiques du bacille de Koch. *Archives générales de Médecine*, mai 1905, p. 1.173.

POTET. — Etude sur les bacilles acido-résistants. *Thèse de Lyon*, 1902.

RIST. — Les principes du diagnostic rationnel de la tuberculose pulm. *Presse Médic.*, 1916, juillet.

RIST et AMEUILLE. — Rapport du V^e Congrès Nat. de la Tub. *Revue de la Tub.*, n° 3, 1923.

ROSENKRANTZ. — *Münchener Medizinische Wochenschrift*, n° 12, 24 mars 1922.

TABLE DES MATIERES

Introduction.	7
I. — Définition, but et principe de l'Homogénéisation.	11
Méthodes d'Homogénéisation.	15
II. — Méthode d'Homogénéisation par l'Eau de Javel	25
Réactifs et Matériel	26
Technique	27
Action de l'Eau de Javel sur les éléments histologiques. Cytolyse.	31
Action de l'Eau de Javel sur les acido-résistants, en particulier, les Bacilles de Koch et sur les autres agents microbiens	32
III. — Résultats de la méthode à l'Eau de Javel. —	
Comparaison avec d'autres procédés classiques	47
Conclusions	41
Bibliographie	44
